24e ANNÉE. N° 94. REVUE MYCOLOGIQUE AVRIL 1902
Editeur : C. Roumeguère, rue Riquet, 37, Toulouse.
Rédacteur : Dr R. Ferry, Avenue de Robache, 7, St-Dié (Vosges).

RECHERCHES

SUR LES

Mucorinées saccharifiantes (Amylomyces)

Par M. le professeur Paul Vuillemin

(*Suite*, voir *Suprà*, p. 1)

DEUXIÈME PARTIE

Série des RHIZOPUS

Le genre *Rhizopus* a été séparé du genre *Mucor* par Ehrenberg en 1820 (1). Le type de ce genre, nommé dans cet ouvrage *Rh. nigricans*, avait déjà été distingué spécifiquement par le même auteur sous le nom de *Mucor stolonifer* (2) ; il n'y avait pas lieu de changer le nom spécifique. Le *Rhizopus stolonifer* avait été vu antérieurement et on peut le reconnaitre dans l'*Ascophora Mucedo* Tode (3) ; mais à cette époque il n'existait pas de distinctions réellement spécifiques de nature à entraîner un droit de priorité.

Caractérisé par ses stolons et par ses filaments radiciformes, le genre *Rhizopus* fut rejeté par Fries (4) sous le prétexte qu'une diagnose générique ne peut pas reposer uniquement sur des propriétés de l'appareil végétatif. Cette règle en elle-même est contestable ; elle témoigne d'un désir excessif de plier tous les végétaux aux codes qui se sont montrés efficaces dans l'étude des plantes supérieures. Dans le cas actuel, elle était invoquée à tort. Les stolons et les rhizoïdes des *Rhizopus* font partie du même appareil fructifère que les sporocystes. C'est un point important sur lequel nous devons d'abord attirer l'attention, car on a souvent confondu ces portions de la fructification modifiées par des adaptations accessoires et secondaires avec les gros troncs du thalle nourricier ou avec le chevelu délicat qu'ils envoient dans le support alimentaire.

(1) Ehrenberg. *De mycetogenesi*. — *Nova Acta*, X, p. 198.
(2) Ehrenberg. *Sylvae mycologicae*, 1818.
(3) Tode. *Fungi mecklemburgenses selecti*, fasc. II, 1791.
(4) Fries. *Systema mycologum*, III, 1829.

Van Tieghem (1) a réhabilité l'opinion d'Ehrenberg en montrant que le genre *Rhizopus* présentait d'autres caractères communs à l'ancienne espèce et à deux nouvelles : *Rh. microsporus* et *Rh. minimus*. Ces caractères tirés du sporocyste lui-même sont : 1° l'insertion apophysaire de la columelle ; 2° les spores un peu anguleuses recouvertes d'une exospore colorée et cuticularisée en crêtes. Ils avaient été signalés déjà par de Bary et Woronine qui, toutefois, n'en avaient pas précisé la valeur générique.

Les autres genres dans lesquels on a signalé des stolons et des crampons ont des spores lisses généralement rondes (*Absidia* Van Tieghem, *Mycocladus* Beauverie, *Actinomucor* Schostakowitsch) ; l'apophyse fait défaut dans le *Rhizomucor* Lucet et Costantin.

L'ornementation de la spore des *Rhizopus* résulte de la différenciation de la membrane en deux lames : une lame interne lisse augmentant d'épaisseur avec l'âge, une lame externe d'épaisseur assez faible et constante ; cette dernière, qui représente la membrane primitive, offre en général un plus grand développement superficiel que la lame interne et, pour se fixer sur elle, subit des *plissements* décrits à tort sous le nom de crêtes, exceptionnellement chez le *Rhizopus echinatus* de petites boursouflures coniques. On a décrit des espèces de *Rhizopus* à spores lisses : *Rh. elegans* Eidam, *Rh. Cohni* Berlèse et de Toni (syn. de *Rh. rhizopodiformis* Cohn), *Rh. Oryzae* Went et Prinsen Geerligs. Je ne veux point examiner ici si les deux premières espèces appartiennent réellement au genre *Rhizopus*. Quant au *Rhizopus Oryzae*, il présente, conformément à la règle, une exospore noire et plissée (fig. 9 et 10).

Quoi qu'il en soit, la forme anguleuse et l'ornementation des spores sont des caractères, sinon constants, du moins très importants du genre *Rhizopus*. Si leur absence fait naître des doutes, leur constatation est un indice très positif d'affinité.

Cependant, la plupart des auteurs attachent moins d'importance aux spores qu'à la forme générale de la fructification caractérisée par des bouquets de pédicelles simples fixés par des rhizoïdes ou crampons et reliés entre eux par des stolons. D'après cette apparence superficielle, une seule espèce de Mucorinée saccharifiante a été rattachée au genre qui nous occupe : c'est le *Rhizopus Oryzae*. Cette espèce joue, dans le ragi de Java, le même rôle que le *Mucor Rouxianus* dans la levure chinoise de Saïgon et de Singapoure ; toutefois, elle ne pousse guère la transformation des matières amylacées au-delà de la production de sucre ; elle ne donne, pour ainsi dire, pas d'alcool.

(1) Van Tieghem. *Nouvelles recherches sur les Mucorinées.* (Annales des Sc. nat., 6e sér., t. I, 1875).

Le *Rhizopus Oryzae* a été considéré par Went et Prinsen Geerligs (1) comme une espèce distincte du *Rh. stolonifer*, en raison des spores et des sporocystes plus petits. Wehmer (2), ayant soumis les deux espèces à une étude comparative, en arrive à conclure qu'elles doivent peut-être être réunies en une seule. Il a constaté une grande inégalité dans les spores de chaque forme, en sorte que les plus grandes du *Rh. Oryzae* rejoignent les plus petites du *Rh. stolonifer* et les dépassent même. S'il n'a jamais vu d'ornementation aux premières, il n'en a pas toujours vu chez les secondes. Sur ce point, l'observation de Wehmer nous paraît insuffisante ; la figure qu'il consacre aux spores de *Rh. stolonifer* ne donne aucune idée des côtes fines et rapprochées que nous y avons toujours constatées, même à un état très jeune (fig. 8), en recourant, bien entendu, aux meilleurs objectifs (apochromatique 2 millim. de Zeiss, oculaire 8 ou 12). Chez le *Rh. Oryzae*, Wehmer n'a vu de formes anguleuses que dans les vieilles fructifications ; il les attribue à un phénomène secondaire, tel que la compression réciproque ou la plasmolyse. S'il en était ainsi, le *Rh. Oryzae* se distinguerait suffisamment, par les spores seules, du *Rh. stolonifer*, mais en réalité l'irrégularité des contours est normale dans les deux espèces, aussi bien que le plissement de l'exospore.

Dans une levure chinoise provenant du Cambodge, Chrzaszcz (3) a trouvé une espèce différente du *Mucor Rouxianus* de la levure de Saïgon et qu'il nomme *Mucor Cambodja*. Le *M. Cambodja* possède aussi la double propriété de saccharifier l'amidon et de produire de l'alcool aux dépens des sucres. Au dire de l'auteur, cette espèce occuperait dans la systématique une position intermédiaire entre les *Rhizopus* et les autres Mucorinées. Le sporocyste muni d'une apophyse, les spores bleu-noir en masse, parfois anguleuses, les stolons, les rhizoïdes répondent au genre *Rhizopus*. L'ornementation des spores n'a pas été vue ; mais le principal caractère différentiel à l'égard des *Rhizopus* est tiré de ce fait que les tubes fructifères ne naissent pas constamment du même point que les crampons. Nous aurons l'occasion de voir que cette déviation du type habituel se rencontre chez tous les *Rhizopus* sans en altérer le véritable caractère générique. Aussi, n'hésitons-nous pas à nommer la Mucorinée du Cambodge *Rhi-*

(1) Went et Prinsen Geerligs. *Beobachtungen über Hefearten und zuckerbildende Pilze der Arrakfabrikation* (Verhandelingen d. Koningl. Akad. van Wetenschappen t. Amsterdam ; 2, IV, 1895).

(2) C. Wehmer. *Der javanische Ragi und seine Pilze*. II. (Centralblatt für Bakteriologie, 2, VII, 6 mai 1901, p. 313-326).

(3) Chrzaszcz. *Die chinesische Hefe* (Centralblatt für Bakteriologie, 2, VII, 6 mai 1901, p. 326-338, 2 pl.)

zopus Cambodja (Chrzaszcz). Lafar (1) a déjà remarqué que cette espèce rentre probablement dans le genre *Rhizopus*. Cette probabalilité est pour nous une certitude.

Au genre *Rhizopus* se rattachent deux autres Mucorinées saccharifiantes isolées par M. Boidin au laboratoire de la distillerie de M. Collette à Seclin. Ces deux nouveaux amylomyces ont été désignés par les lettres grecques β et γ pour les distinguer du *Mucor Rouxianus* qui prenait le nom d'amylomyces α. L'amylomyces β provient d'un échantillon de Koji japonais, fourni à M. Boidin par l'entremise de M. Armand, ministre plénipotentiaire de France au Japon ; l'*Amylomyces* γ provient d'une levure chinoise envoyée du Tonkin (2).

L'agent du Koji japonais est utilisé depuis quelques années dans les distilleries belges. Sitnikoff et Rommel (3) en ont reconnu l'identité avec l'*Amylomyces* β de Collette et Boidin et nous ont fourni les premiers renseignements botaniques sur cette espèce et l'*Amylomyces* γ.

Dans ces deux espèces, Sitnikoff et Rommel signalent des caractères de *Rhizopus* : ils figurent le sporocyste atténué en pédicelle, laissant soupçonner une apophyse, une membrane granuleuse se prolongeant sur le filament, une columelle presque sphérique à membrane lisse et brun clair. La surface des spores « montre un grand nombre de stries très fines qui disparaissent lors du gonflement de la spore dans le moût et doivent, par conséquent, être considérées comme des plis de la membrane ». Cependant, les auteurs ne songent pas au genre *Rhizopus*, parce que l'ornementation de la membrane a été attribuée, dans ce genre, à des crêtes, non à des plissements et surtout parce qu'ils n'ont pas rencontré de crampons radiciformes.

Les *Amylomyces* β et γ saccharifient l'amidon plus complètement que le *Mucor Rouxianus*, mais produisent moins d'alcool, en sorte que l'adjonction des levures ordinaires leur est encore plus nécessaire au point de vue du rendement industriel. Il est pourtant une propriété physiologique qui les sépare : l'*Amylomyces* γ respecte le sucre de canne, que l'*Amylomyces* β fait fermenter. Sur cet antagonisme, Sitnikoff et Rommel ont basé un procédé pour exagérer les différences normalement faibles entre les appareils végétatifs des deux espèces. Dans les solutions sac-

(1) Lafar. *Technische Mykologie. Ein Handbuch der Garungsphysiologie.* — T. II *Eumyceten-Garungen* (Iena ; Fischer 1901, p. 441).

(2) E. Boullanger. *L'emploi des Mucédinées en Distillerie* (Revue générale des sciences pures et appliquées, 15 août 1901, p. 689-698).

(3) Sitnikoff et Rommel. *Recherches comparatives sur quelques espèces d'Amylomyces.* (Annales de la brasserie et de la distillerie, t. III, 10 novembre 1900, p. 493-502).

charosées, les filaments s'épaississent chez β, s'amincissent chez γ. Le calibre moyen monte de 10 μ,8 à 13,8 chez le premier ; il descend de 9,4 à 8,3 chez le second. Le contraste devient alors saisissant.

Sans recourir à ce subterfuge, on obtient un caractère différentiel dans les dimensions des spores qui mesurent en moyenne à l'état sec 9 μ,1 sur 5,7 chez l'*Amylomyces* β et 7,2 sur 4,3 chez l'*Amylomyces* γ Dans les deux espèces, les fructifications se présentent, d'après les descriptions et les dessins des auteurs, sous l'aspect de sporocystes parfois portés sur un filament simple et uniforme, parfois terminant des pédicelles droits ou courbés, aboutissant isolément ou par groupes sur un renflement claviforme ou sphérique. Ces aspects étranges sont dûs en grande partie aux milieux défavorables dans lesquels on a cultivé ces espèces, mais ils sont en réalité de simples modifications de la fructification typique des *Rhizopus*. Nous avons pu nous en convaincre par l'étude des *Amylomyces* β et γ de Boidin, dont nous sommes redevables à l'obligeance de M. R. Ferry. Les cultures que nous en avons faites appartenaient à des *Rhizopus* plus petits que le type vulgaire de ce genre et s'accommodant mieux que lui des hautes températures. Nous avons pu confirmer l'opinion de Sitnikoff et Rommel sur la distinction spécifique de ces deux *Amylomyces*. Ces deux espèces, qu'il n'est pas possible d'identifier avec les espèces de *Rhizopus* suffisamment connues, seront décrites sous des noms rappelant leur origine, *Rhizopus japonicus* (*Amylomyces* β) et *Rhizopus tonkinensis* (*Amylomyces* γ).

RHIZOPUS JAPONICUS sp. nov. (Pl. CCXXIV, fig. 11 à 14)

Le *Rhizopus japonicus* pousse à merveille sur du riz bouilli dans six fois son poids d'eau ou sur pomme de terre. En moins de deux jours, à la température de 30° c., la culture est noire de sporocystes. Le riz est-il étalé dans une boite de Petri large et plate (9 centimètres de diamètre, 1 de haut), on voit au bout de 48 heures une couronne noir-bleuâtre formée par des têtes presque confluentes au voisinage du couvercle ; les points noirs s'étendent jusqu'au centre, mais de plus en plus clairsemés à mesure qu'on s'éloigne des points où l'air afflue aisément. Sur pomme de terre, en large tube étranglé de Roux, le duvet se dresse davantage et se couvre jusqu'au fond du tube de sporocystes noir-bleuâtre. Il est très facile de se procurer d'innombrables spécimens de fructifications en harponnant au moyen d'une spatule de platine, pliée au bout et flambée, des fragments de ce duvet.

Dans le nombre, on rencontre une importante proportion de fructifications enracinées par des crampons, formées elles-mêmes

d'un bouquet de tubes droits terminés par un sporocyste. Cette touffe, dont les membranes sont colorées en brun au bout de quelques jours, se développe à l'extrémité d'un stolon afférent. Ce stolon est perpendiculaire au support à son extrémité épaissie, colorée et rigide, tandis qu'il se continue par un filament cylindrique décoloré à quelque distance du bouquet et souvent froissé dans les préparations.

Tubes fertiles divergeant en bouquet, crampons radiciformes partant de leur base, stolon arrivant à ce même point : c'est la réunion des trois caractères essentiels des *Rhizopus* les plus typiques. Une telle fructification est souvent terminale. Le stolon afférent chargé d'aller fonder plus loin une nouvelle fructification s'observe rarement à ce niveau.

La manière dont le stolon afférent se rabat à son extrémité renflée a été déjà signalée par G. Bainier (1) chez le *Rhizopus reflexus* : « Le filament mycélien, après avoir décrit son arcade, retombe presque perpendiculairement et se termine en cône qui bourgeonne. Les bourgeons supérieurs porteront plus tard les sporanges, les autres se ramifient pour former les crampons. Lorsque sa fonction est terminée, le stolon s'élargit un peu au-dessus du point d'insertion sur la plante qui l'a produit et se détruit dans la plus grande partie de sa longueur. » Dans le *Rh. japonicus*, le renflement est visible dès le début de la formation de l'appareil ; nous ne savons pas s'il en est de même dans l'espèce de Bainier, que nous ne connaissons pas ; mais nous pouvons dire qu'à cet égard l'espèce japonaise se comporte comme le vulgaire *Rh. stolonifer*. En effet, on voit normalement dans cette plante le stolon renflé aborder perpendiculairement son support (fig. 1 *s. a.*). J'ai maintes fois constaté ce fait depuis quinze ans passés et sur des *Rhizopus* de différente provenance. Il est très surprenant que les ouvrages les plus récents (2) continuent à représenter le *Rh. stolonifer* avec des stolons cylindriques, horizontaux, reliant les différents bouquets comme feraient des cordes tendues de l'un à l'autre. Cette erreur a entraîné une interprétation inexacte de la fructification des *Rhizopus* et jeté une certaine obscurité sur les affinités du groupe auquel ils appartiennent.

Le stolon afférent, renflé à son extrémité et coloré en brun comme les pédicelles des sporocystes eux-mêmes, n'appartient pas au thalle, ne se rattache pas à l'appareil végétatif : il repré-

(1) G. Bainier. *Observations sur les Mucorinées.* (Annales des Sciences naturelles, Bot., 6e série, t. XV, p. 84 ; pl. IV, fig. 1-4).

(2) Schrœter. *Mucorineae* (in Engler und Prantl. Die natürlichen Pflanzenfamilien. Leipzig, 1897, fig. 108).

sente l'axe primaire d'une fructification ramifiée qui, le plus souvent, s'épuise en donnant des branches latérales.

L'axe du *Rhizopus japonicus*, après s'être renflé en fuseau, se termine parfois en cône qui bourgeonne, tout comme celui du *Rhizopus reflexus*. Les bourgeons voisins de la pointe s'allongent peu et donnent des rhizoïdes simples ou peu ramifiés ; les précédents se redressent ou se tordent pour se terminer chacun par un sporocyste. Plus souvent la pointe n'est pas libre ; l'axe plongeant se termine par une touffe de rhizoïdes simples (fig. 14) ou ramifiés. On rencontre aussi des figures plus simples où les quatre éléments de la fructification des *Rhizopus* sont représentés chacun par un seul membre : un axe plongeant fusiforme, un rhizoïde continuant sa direction et s'enfonçant dans le support, un tube sporocystifère obliquant d'un côté, un stolon efférent divergeant de l'autre. Le même schéma se modifie légèrement quand les crampons deviennent horizontaux. Ces derniers aspects rappellent le port du *Rh. stolonifer*.

Le type *Rhizopus* s'altère plus profondément quand l'axe se prolonge sensiblement au-delà de l'insertion du premier tube fertile. Alors le renflement fusiforme devient de moins en moins marqué.

On voit aussi un stolon afférent s'enraciner à son extrémité et émettre, au lieu de tubes fructifères, un stolon efférent brun qui, après un court trajet d'un demi-millimètre, fournira un bouquet de sporocystes et des crampons rudimentaires.

La série la plus remarquable est offerte par les fructifications dépourvues de rhizoïdes ou de crampons ; c'est la seule qui ait été décrite, mais elle présente des formes plus variées que celles qui ont été figurées par Sitnikoff et Rommel. Le renflement fusiforme typique des *Rhizopus* se concentre en une boule semblable à un sporocyste émettant un ou plusieurs tubes fructifères ; nous en avons vu jusqu'à 8. Cette figure répond à la description du *Rh. stolonifer* var. *luxurians*, observé par E. Frank et décrit par Schrœter (1). Le stolon afférent, dans ce cas comme dans ceux que Sitnikoff et Rommel ont figuré, présente bien clairement le caractère d'un axe primaire de fructification et même d'un tube terminé par un sporocyste prolifère.

Mais bien souvent, le renflement d'où divergent les tubes fertiles, ne donne pas une boule ; il reste au contraire plus faible que dans les fructifications enracinées ; le bouquet de sporocystes continue la direction du stolon fonctionnant comme le pédoncule commun d'une ombelle. Les branches de premier ordre peuvent à leur tour, au lieu de se terminer par un sporocyste, se renfler

(1) Schrœter. — *Pilze* (in Kryptogamen-Flora von Schlesien, 1886, p. 207).

et émettre des branches du second ordre. On peut voir une telle branche, elle-même ramifiée, née à côté du tube fructifère simple, évidemment homologue d'un stolon efférent. Et pourtant, une telle figure, considérée en elle-même, a tous les caractères d'une fructification rameuse sans stolon ni rhizoïde.

Enfin le stolon afférent, après avoir émis latéralement un bouquet de sporocystes sans crampons, peut se prolonger et se terminer par un sporocyste plus volumineux. Eidam (1) a décrit un sporocyste terminal chez le *Rhizopus elegans*.

La comparaison de ces diverses formes nous montre que l'indétermination de l'appareil fructifère par l'absence d'un sporocyste terminal, l'existence de rhizoïdes ou crampons radiciformes et même de stolons, sont des caractères moins essentiels pour définir les *Rhizopus* que la structure des spores avec leur exospore plissée et celle des sporocystes avec leur apophyse.

Ces trois caractères sont des effets secondaires de la ramification d'un appareil fructifère primitivement défini, mais courbé sous le poids de rameaux trop nombreux. L'axe rabattu a pris des points d'appui sur le support, notamment par son sommet naguère fertile, maintenant transformé en crampons. Les rameaux eux-mêmes se sont différenciés en tubes sporifères et en tubes fixateurs; la fructification dressée et ramifiée du *Mucor corymbifer* par exemple a fait place au système indéfini, pourvu de stolons, de crampons, de bouquets sporifères régulièrement groupés dans les genres *Absidia* et *Rhizopus*. Dans le seul *Rhizopus japonicus*, la comparaison d'une série de fructifications nous a permis de remonter tous les stades de cette évolution.

Dans les appareils fructifères régulièrement enracinés suivant le type des *Rhizopus*, le pédicelle des sporocystes varie d'un demi-millimètre à un millimètre un tiers ; les dimensions moyennes, un peu au-dessous d'un millimètre, sont les plus fréquentes ; les diamètres ordinaires du sporocyste varient de 160 à 215 μ, la largeur de la columelle atteint environ les deux tiers de ce diamètre. Cette columelle se prolonge comme chez le *Rh. stolonifer*, en apophyse très évasée, presque aussi rigide que la columelle elle-même.

Les spores (fig. 11 à 13) sont plus longues que larges, un peu anguleuses, généralement pointues à une extrémité, ayant à peu près la forme d'une noisette. Leurs dimensions varient beaucoup. En transportant directement les sporocystes des jeunes cultures dans l'eau, nous avons trouvé le plus souvent des spores de 9 μ sur 6,5, mais aussi des extrêmes de 12 μ,5 sur 9 et de 7 sur

(1) Eidam. — (Wanderversammlung der botan. Section der Schles-Gesellschaft für vaterlandische Cultur. — Cité par Schrœter, *l. c.*).

5,65. Sitnikoff et Rommel assignent à l'*Amylomyces β* une longueur un peu supérieure à 9 μ et une largeur de 5 μ 7 à sec et de 8 μ 1 après gonflement : d'où il résulte que la largeur varie beaucoup plus que la longueur sous l'influence de la sécheresse et de l'humidité. L'endospore s'épaissit longtemps sans que les dimensions extérieures se modifient ; l'exospore d'un noir bleuâtre se plisse irrégulièrement ; les plissements se montrent déjà sur les spores très jeunes, longtemps avant la déhiscence du sporocyste ; ils sont aussi irréguliers que les plis d'une toge, partent en rayonnant de certains points, notamment du bout pointu, convergent, se bifurquent, s'interrompent, si bien que la spore ressemble assez à une muscade microscopique. Sur la coupe optique, on reconnaît que les ornements de la membrane résultent du froissement de la couche superficielle plus ample que l'endospore et non de crêtes en relief. Cette structure avait été devinée par Sitnikoff et Rommel en raison de ce fait que les stries de la surface disparaissent quand la spore se gonfle pour germer.

RHIZOPUS TONKINENSIS, sp. nov. (Pl. CCXXV)

Sur riz et sur pomme de terre, le *Rhizopus tonkinensis* pousse aussi bien que le *Rh. japonicus* ; seulement les fructifications exigent une aération plus parfaite. Dans une boîte plate, elles sont rares et confinées à la périphérie ; dans un tube de Roux elles couvrent le sommet, tandis que la touffe de filaments, moulée sur le tube comme un tampon de coton, reste blanche ou prend en vieillissant des tons jaune brunâtre de roussi. On n'y distingue pas le pointillé noir bleuâtre des sporocystes.

Les appareils fructifères reproduisent, à une échelle réduite, toute la série de formes signalées chez le *Rh. japonicus* : stolon renflé en fuseau et coloré en brun à son extrémité tombante, touffe de rhizoïdes fixateurs et bouquet sporifère partant du même niveau (fig. 1, 2) ; crampons supprimés et bouquet sporifère prolongeant le stolon renflé (fig. 3, 4, 5) ; stolon perdant son renflement et prenant l'apparence d'un axe fructifère ordinaire simple (fig. 9) ramifiés au sommet (fig. 6, 7) ou latéralement (fig. 8). Parfois, dans ces appareils dressés et définis par un sporocyste terminal, quelques rameaux avortés, intercalés aux rameaux fertiles, rappellent encore les crampons (fig. 8, 7).

On trouve des systèmes plus compliqués par suite du raccourcissement des stolons réduits à une branche brune et rigide, avec crampons et sporocyste unique au dernier nœud (fig. 10), sans crampon au deuxième nœud (fig. 11), avec écartement des insertions des tubes fertiles. D'autres sont plus simples et réduits à un sporocyste dont le pédicelle très court (fig. 4) ou nul aboutit au renflement piriforme du stolon redressé ; parfois ce

renflement est à peine sensible (fig. 5) ou réduit à une vague dilatation (fig. 9). Dans ce dernier cas, la fructification est réduite à un sporocyste porté sur un filament redressé, comme chez les *Mucor*, et généralement volumineux.

Les dimensions moyennes des sporocystes sont de 75 à 100 μ; les dimensions moindres sont fréquentes, les dimensions supérieures sont plus rares. Le columelle a les mêmes dimensions relatives que chez le *Rh. japonicus*; l'apophyse a la même forme que chez les autres *Rhizopus*; sa membrane est ici sensiblement plus mince que la columelle; en conséquence, dans les sporocystes vides, la columelle se rabat souvent sur elle en chapeau d'Agaric (fig. 2, 8), comme chez le *Rh. stolonifer*, tandis que ce phénomène est plus rare et moins marqué chez le *Rh. japonicus*.

Les spores (fig. 12, 13, 14) ont la même structure et la même ornementation que dans l'espèce précédente, mais elles sont plus petites; elles mesurent en moyenne 8 μ de long sur 5,65 à 6,5 de large. Ces dimensions, prises sur les exemplaires frais mais non gonflés, se rapprochent des dimensions données par Sitnikoff et Rommel pour les spores ayant subi un gonflement d'une demi-heure. La dessiccation, comme chez le *Rh. japonicus*, réduit surtout la largeur.

RHIZOPUS STOLONIFER Ehrenberg (Pl. CCXXIV, fig. 1 à 8)

Cette espèce vulgaire a été si souvent décrite qu'il pourrait sembler superflu d'y revenir une fois de plus. Aussi n'avons-nous garde d'en reprendre toute l'histoire naturelle. Quelques détails seulement demandent à être précisés, qui montreront plus clairement combien elle ressemble aux deux *amylomyces* β et γ, désormais réunis dans le même genre.

Dans les conditions normales de végétation sur le pain, à la température de l'appartement variant de 6 à 15° c., le stolon afférent aborde son support perpendiculairement; il se dilate de bonne heure en massue, le point le plus large atteint près de 6 μ d'épaisseur, tandis que, dans le reste de son trajet, le stolon n'a pas plus de 1 μ, 75. Un tel épaississement n'avait été signalé que chez le *Rhizopus reflexus* Bainier, comme un phénomène tardif. L'épaississement claviforme ne tarde pas à brunir. Van Tieghem avait signalé le brunissement comme spécial à l'extrémité recourbée, mais non renflée, du stolon du *Rh. circinans*; en général, il considère la cuticularisation, manifestée par la couleur, comme un caractère distinctif des *Absidia* à l'égard des *Rhizopus*. Cette double omission nous montre à quel degré d'approximation on doit s'attendre dans les descriptions anciennes des espèces de *Rhizopus*.

Dans les mêmes cultures, on trouve des stolons qui, n'ayant

pas rencontré de support, se ramifient au-dessus du renflement fusiforme et donnent un bouquet de sporocystes et de filaments stériles qui les terminent à la façon d'une ombelle. Van Tieghem a décrit et nous avons retrouvé dans des cultures sur du jus de pruneaux, des stolons qui se redressaient pour donner directement un sporocyste. Dans ce cas, comme chez les *Rh. japonicus* et *tonkinensis*, le renflement intermédiaire s'atténuait ou même disparaissait.

Le *Rhizopus stolonifer* supporte mal les hautes températures. Au voisinage de 30°, il donne des fructifications rabougries (fig. 2 à 7) qui rappellent le *Rh. japonicus* par leurs formes aberrantes, par la longueur des pédicelles fructifères, par la dimension des sporocystes. Cependant les spores gardent leurs dimensions.

Les auteurs ne s'accordent pas sur la taille des spores. Van Tieghem leur assigne en moyenne 14 sur 11 μ, Schrœter 10 à 15 sur 11 ; Wehmer considère comme exceptionnels des diamètres supérieurs à 8-10 μ ; il déclare de plus qu'elles sont généralement dépourvues d'angles et que souvent leur paroi est dépourvue de stries. Sur la figure de Wehmer, les spores sont fortement anguleuses et présentent trois stries énormes.

En réalité les spores sont inégales ; leur taille varie peut-être plus encore que dans les autres espèces ; cependant celles de 9 μ sur 7,5 comptent parmi les plus petites ; celles de 15 μ sur 11 ne sont pas plus rares ; les dimensions de 12 sur 8 μ comptent parmi les plus fréquentes ; c'est dire que la dimension moyenne est supérieure à celle des deux amylomyces et répond aux spores exceptionnellement grandes du *Rh. japonicus*. Leur forme générale est celle des autres espèces ; elles paraissent moins généralement allongées, peut-être parce qu'elles présentent plus souvent leur pointe en haut par suite d'un aplatissement plus marqué du pôle ressemblant à la base d'une noisette. Les plis de l'exospore sont au moins aussi serrés, partant plus nombreux que sur les spores plus petites des *Rh. japonicus* et *tonkinensis*. On en compte parfois une quinzaine sur une seule face ; elles ont bien rarement la forme de demi-méridiens, car le plissement est aussi compliqué que dans les autres espèces (fig. 8). Nous n'avons jamais observé de spores lisses, même dans les sporocystes encore jeunes, dont les spores, à membrane encore mince, avaient atteint à peu près leur taille définitive ; le plissement est contemporain de la différenciation de la membrane en exospore et endospore.

Comparaison des cultures de Rhizopus japonicus, tonkinensis, oryzae, stolonifer.

On arrive à distinguer les divers amylomyces, sans recourir à

l'examen microscopique d'après l'aspect des cultures sur différents milieux et à différentes températures. Nous nous bornerons à mentionner les indications très suffisantes fournies par les cultures sur liquide Raulin et sur pomme de terre.

Le liquide Raulin était distribué dans des ballons de 225 centimètres cubes contenant chacun un décilitre de solution nutritive. Tous les *Rhizopus* s'y développent abondamment à la température de 30°.

Au contraire, le *Mucor Rouxianus* ou Amylomyces α n'y donne qu'un léger flocon qui n'atteint jamais la surface du liquide. Le *Mucor javanicus* prospère davantage. Son thalle submergé pendant les premiers jours provoque une fermentation rendue apparente par le dégagement de bulles de gaz et l'odeur d'alcool, bien que ce liquide ne contienne que du sucre de canne. Quand la fermentation est calmée, un duvet blanc jaunâtre s'étale sur toute la surface, mais c'est un gazon court même au bout d'un mois.

Les *Rhizopus japonicus* et *tonkinensis* grandissent pendant huit jours, mais avec une vitesse variable. Le *R. japonicus* s'élève d'abord davantage, puis se laisse dépasser par le *R. tonkinensis* à partir du cinquième jour. Le second jour le *R. japonicus* montre déjà des sporocystes, le *R. tonkinensis* est encore dépourvu de fructifications. Le quatrième jour, le premier offre un duvet diffus dans le liquide, une couverture lâche, incomplète d'un côté, une touffe aérienne très noire atteignant 3 centimètres et même 4 sur certains points ; le second offre des flocons plus abondants à la partie supérieure du liquide, une croûte blanche épaisse et plissée, une touffe aérienne d'un gris relativement pâle en raison de la taille visiblement moindre des sporocystes, compacte sur une hauteur de 2 centimètres, lâche sur le troisième centimètre.

Le cinquième jour, les touffes de *R. japonicus* ont atteint leur hauteur maxima de 2,35 à 3,5 centimètres ; de rares stolons s'élèvent jusqu'à 4 cm. ; le *R. tonkinensis* remplit le ballon ; quelques fructifications montent dans le col jusqu'à 4,5 cm., le lendemain jusqu'à 5 cm.

Les sixième, septième et huitième jours, les cultures des deux espèces occupent sensiblement le même espace, mais leur accroissement est indiqué par l'apparition de nouveaux sporocystes encore blancs. Ceux-ci ne se montrent plus à partir du neuvième jour. En même temps, le *R. japonicus* s'affaisse, se décolle en arrière, du côté le moins éclairé, et se rétracte de manière à remettre à nu un coin de la surface liquide. Le *R. tonkinensis* s'affaisse très peu au centre, mais la touffe aérienne reste indéfiniment appliquée à la paroi dans tout le ventre du ballon.

Dans les mêmes conditions de milieux et de température (liquide Raulin à 30°), le *Rhizopus Oryzæ* ressemble au *R. japonicus;* il

ne forme pas non plus de croûte épaisse à la surface du liquide ; la végétation aérienne, robuste, grossière, d'un gris devenant roussâtre, s'affaisse à la fin de la première semaine et se rétracte en découvrant d'un côté le liquide.

La différenciation devient nette à 37°. Cette température ne permet pas le développement du *R. japonicus*, tandis que le *R. Oryzæ* donne des touffes submergées assez notables qui, au bout de cinq jours, donnent un voile de filaments aériens délicats de 2 à 3 cm. de diamètre.

Cette température ne supprime pourtant pas la faculté germinative des spores du *R. japonicus*. La température de l'étuve ayant été abaissée à 35° le septième jour, les deux espèces poussaient activement et fructifiaient dès le lendemain. Cinq jours après le refroidissement de l'étuve, les deux cultures s'affaissaient. Toute la couverture fut enlevée d'une pièce avec une spatule de platine, séchée et pesée. La récolte était de 0 gr. 390 pour le *R. japonicus*, de 0 gr. 465 pour le *R. Oryzæ*. Le liquide nourricier contenait 5 grammes de substances dissoutes au début de l'expérience. Le *R. japonicus* en avait utilisé un peu moins que son congénère. Pensant que le résidu contenait encore un aliment convenable pour le *R. Oryzæ*, je semai ce dernier dans le ballon d'où j'avais retiré le *R. japonicus*. Effectivement, des flocons apparurent dans le liquide épuisé pour le *R. japonicus*. Inversement, je semai du *R. japonicus* dans le ballon du *R. Oryzæ*, mais rien ne poussa.

A la température de 30°, le *R. stolonifer* se développe très lentement dans liquide Raulin.

La température de 18° au contraire lui est favorable. La croissance est plus lente que celle des amylomyces à 30°, mais elle se poursuit longtemps ; au bout de quelques semaines la culture prend dans sa portion aérienne l'aspect du *R. japonicus* ; elle se rétracte d'un côté, se sépare de la paroi du ballon et s'affaisse ; mais à la surface du liquide il s'est produit une croûte aussi épaisse que chez le *R. tonkinensis* ; cette croûte prend une teinte jaune orangé.

Le *R. Oryzae*, cultivé de la même façon sur liquide Raulin à 18°, pousse un peu plus lentement que le *R. stolonifer* ; mais il finit par le dépasser et remplit le ballon comme une culture de *R. tonkinensis* faite à 30°. La croûte est aussi épaisse ; la culture ne s'affaisse pas, même au bout d'un mois. La principale différence avec le *R. tonkinensis* est offerte par les filaments plus robustes et les sporocystes plus gros.

Les cultures sur pomme de terre en tubes de Roux offrent des caractères aussi tranchés que les cultures sur liquide Raulin. Les amylomyces y supportent bien de hautes températures. Tous trois croissent rapidement à 39° ; le *R. stolonifer* au contraire y est

tué. Un tube, ensemencé avec cette espèce, reste stérile à 28° s'il a séjourné quatre jours à 39°. Des trois amylomyces, c'est le *R. Oryzae* qui devient le plus vigoureux entre 37 et 39°. Dans un tube de 25 millimètres de diamètre, les filaments atteignent si vite les parois que les sporocystes anémophiles se forment seulement au sommet ; le *R. tonkinensis* ayant une végétation moins vigoureuse n'atteint pas les parois en masse aussi dense ; l'air circule et les fructifications se forment tout le long du tube. Dans ces conditions, il se rapproche du *R. japonicus* et ne s'en distingue plus comme à 30° par la localisation des sporocystes noirs au sommet.

A 30°, les rapports changent. Nous avons vu, à propos de la diagnose des deux espèces nouvelles, que le *R. japonicus* fructifiait tout le long du tube, que le *R. tonkinensis* formait une simple couronne noire. Le *R. Oryzae* ressemble plutôt au *R. japonicus* ; il donne une couche épaisse, noire au sommet et prend une couleur grise jusqu'au bas du tube et dans la boule par suite de l'abondance des fructifications.

On a dit que le *R. tonkinensis* avait, au point de vue industriel, l'inconvénient de donner plus de filaments que de spores. Il serait donc difficile d'ensemencer uniformément de grandes masses liquides. En réalité ce rapport varie avec les conditions d'aération, la forme et les dimensions des vases ; ces variations ont pour cause déterminante la vigueur de la végétation, déterminée elle-même par la température. Le *R. Oryzae* en tube est relativement infécond à 37°, non pas parce que cette température est nuisible, mais au contraire parce qu'elle est trop favorable : les filaments s'étouffent en s'entassant dans un espace confiné en couches trop denses et les fructifications aériennes cessent de se produire dans les points où l'air n'arrive pas. C'est une condition qu'il ne faut pas négliger dans la culture des autres espèces.

Le *R. stolonifer* se développe bien sur pomme de terre, pourvu que la température ne soit pas trop élevée ni trop basse. Bainier a déjà remarqué qu'il pousse difficilement par les temps froids ; cet observateur a ainsi établi une distinction thermique entre le *Rhizopus reflexus*, moisissure d'hiver, et le *R. stolonifer*, moisissure d'été. Cette dernière donne à peu près les mêmes résultats définitifs de 15 à 30°, mais plus lentement à 15 qu'à 30°. Les filaments forment un duvet grossier mais lâche n'atteignant guère les parois qu'au sommet et ne fructifiant abondamment qu'à la partie supérieure. La pomme de terre n'est pas entièrement cachée comme dans les cultures des amylomyces.

Le *R. Oryzae* se distingue aussi nettement du *R. stolonifer* par ses températures critiques que par ses caractères morphologiques

puisqu'il pousse très bien au-delà de 37° dans les milieux liquides et sur les solides. De plus, il est incomparablement plus robuste sur pomme de terre. N'ayant pas réussi à atténuer ces différences, nous pensons qu'il s'agit de deux espèces distinctes.

CONCLUSIONS

Les *Amylomyces* β et γ se distinguent génériquement de l'*Amylomyces* α ; l'action saccharifiante qui les réunit dans un même groupe biologique est indépendante des affinités botaniques.

L'*Amylomyces* α prend place dans le genre *Mucor* sous le nom de *M. Rouxianus*, à côté du *M. javanicus*, du *M. circinelloides*, du *M. ambiguus*.

Les *Amylomyces* β et γ, le *Mucor Cambodja* rentrent dans le genre *Rhizopus* avec le *R. Oryzæ* et le *R. stolonifer*. Ils constituent deux espèces nouvelles de ce genre, le *R. japonicus* et le *R. tonkinensis*.

Les *Rhizopus stolonifer*, *Oryzæ*, *japonicus* et *tonkinensis* ont une exospore noire, munie de plis irréguliers et non de crêtes régulièrement étendues suivant les méridiens de la spore.

L'apophyse commune aux quatre espèces appartient au pédicelle renflé ; sa membrane est plus mince que celle du sporocyste.

La fructification des *Rhizopus* est normalement ramifiée. Les stolons et les rhizoïdes en sont des parties constitutives au même titre que les tubes terminés par des sporocystes.

Le stolon afférent possède une extrémité renflée et colorée en brun chez le *R. stolonifer*, comme chez les trois *amylomyces* ; il représente le filament primaire ou tronc de la fructification. Dans les circonstances normales, l'extrémité brune et renflée s'incline vers le sol et différencie ses rameaux en filaments radiciformes ou crampons, ou rhizoïdes, en pédicelles terminés par des sporocystes et en stolons efférents devenant l'origine de nouveaux axes fructifères.

Parfois l'axe fructifère s'épuise en donnant des rameaux fertiles et fixateurs, parfois il se termine lui-même par un sporocyste ou un crampon.

Dans les milieux artificiels et dans des conditions aberrantes de température et de composition physico-chimique du support, les rhizoïdes se simplifient ou cessent de se produire. Le stolon afférent change de direction, modifie son renflement en plus ou en moins. On obtient alors des fructifications ombelliformes où tous les pédicelles rayonnent, sans mélange de rhizoïdes, autour d'une boule équivalente au renflement normal de l'axe fructifère, ou bien des fructifications irrégulièrement rameuses, ou enfin des fructifications d'apparence simple portant sur leur pédicelle un renflement plus ou moins réduit, dernier vestige du nœud d'où partaient primitivement les pédicelles multiples et les rhizoïdes.

Tous ces degrés de transformation ont été observés chez le *R. stolonifer*, le *R. Oryzæ*, les *R. japonicus* et *tonkinensis*. Ces variations, produites sous l'action des influences extérieures, n'offrent pas de bons caractères génériques ou même spécifiques.

Les quatre espèces se distinguent par la dimension moyenne des spores, par les températures critiques et par l'aspect des cultures.

Explication de la Planche CCXXIV

Rhizopus stolonifer, *Rh. Oryzae*, *Rh. japonicus*.

Fig. 1, 2, 6, gross[t] : 80. — Fig. 3, 4, 5, 7, 14, gross[t] : 60. — Fig. 8, 9, 10, 11, 12, 13, gross[t] : 2,300.

Fig. 1. — *Rhizopus stolonifer*. Jeune culture sur du pain à basse température. Fructification du type habituel. — *s. a.* Stolon afférent renflé et coloré en brun à son extrémité. — *s. e.* Stolon efférent, incolore, commençant à s'allonger. — *r.* Rhizoïdes. — *t. t. t.* Tubes fructifères. — *s.* Sporocyste. — *c.* Columelle. — *a.* Apophyse. — Gross[t] : 80.

Fig. 2 à 7. — *Rhizopus stolonifer*. Culture à la température de 28 à 30° C sur pomme de terre. Disparition progressive des rhizoïdes. Amincissement du stolon afférent qui, dans la fig. 7 (*s. a.*) n'est plus indiqué que par la coloration brune. Les tubes fructifères semblent être des ramifications du stolon afférent (fig. 3, 5, 6) ou son prolongement (fig. 4, 7). Gross[t] : 80, fig. 2 et 6. — Gross[t] : 60, fig. 3, 4, 5 et 7.

Fig. 8. — *Rhizopus stolonifer*. Spore à exospore plissée. Gross[t] : 2,300.

Fig. 9 et 10. — *Rhizopus Oryzae*. Spores à exospore plissée. Gross. : 2.300.

Fig. 11, 12, 13. — *Rhizopus japonicus*. Spores à exospore plissée. Coupe optique et vue de la surface. Gross[t] : 2,300.

Fig. 14. — *Rhizopus japonicus*. Fructification semblable aux formes habituelles de *Rhizopus stolonifer*. — *s. a.* Stolon afférent. *r.* Rhizoïdes. Gross[t] : 60.

Explication de la Planche CCXXV

Rhizopus tonkinensis

Fig. 1, 2, 3, 4, 5, gross[t] : 220. — Fig. 6, 7, 8, 9, 10, 11, gross[t] : 80. — Fig. 12, 13, 14, gross[t] : 2,300.

Fig. 1 et 2. — Fructifications munies de rhizoïdes (*r*). — *s. a.* Stolon afférent. — *t.* Tube fructifère. — *c.* Columelle rabattue sur l'apophyse.

Fig. 3. — Le renflement terminal du stolon afférent (*s. a.*) porte deux pédicelles.

Fig. 4. — Le renflement terminal du stolon afférent porte un seul pédicelle très court.

Fig. 5. — Le stolon afférent peu renflé se continue avec le pédicelle unique.

Fig. 6. — Stolon afférent à peine renflé portant deux pédicelles allongés.

Fig. 7. — Stolon afférent non renflé, mais encore coloré en brun au sommet, se comportant comme le pédicelle commun d'une ombelle.

Fig. 8. — Ramification en grappe irrégulière.

Fig. 9. — Fructification paraissant simple, la limite n'étant plus visible entre le stolon légèrement fusiforme et le pédicelle unique.

Fig. 10. — Fructification compliquée par l'émission d'un stolon secondaire (*s.* 2) loin de l'extrémité du stolon primaire (*s. a.*).

Fig. 11. — Stolon secondaire (*s.* 2) court portant un seul pédicelle et pas de rhizoïdes.

Fig. 12, 13, 14. — Spores.